

# تهیه ال افدرین و نور افدرین به روش بیوسنتتیک- سنتتیک از اثر تخمیر مخمر آبجو بر روی بنز آلدئید

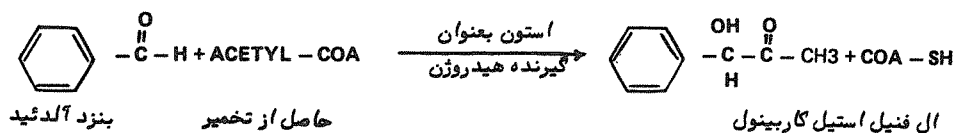
دکتر منصور خردمندی

استادیار دانشگاه ارومیه

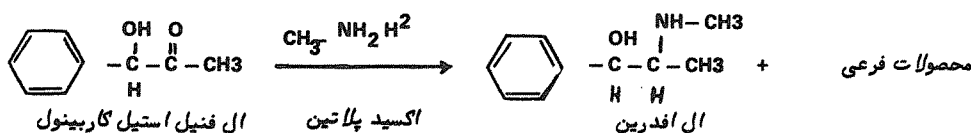
چکیده:

افدرین یا آدرنالین گیاهی آلکالوئیدی است که به مقدار جزئی در گونه‌های EPHEDRACEA یافت می‌شود. تولید آن در گیاه از تبدیل فنیل آلانین به بنز آلدئید و بنز آلدئید به یک ماده واسط و احتمالاً "فنیل استیل کار بینول" و سپس به افدرین صورت می‌گیرد. استخراج آن از یک نوع افدرا که از ناحیه مردآباد کرج جمع‌آوری گردیده بود توسط بنزن سرد در حضور گرینات سدیم و طی مراحل چند انجام پذیرفت که راندمان آن قابل ملاحظه نبود لذا افدرین تحت دو فرایند یکی بیوسنتتیک تا مرحله تولید ال فنیل استیل کار بینول با استفاده از اثر تخمیری مخمر آبجو بر روی بنز آلدئید و دیگری سنتتیک از احیاء کتو الکل فوق در حضور متیل آمین یا آمونیاک به ترتیب جهت تولید افدرین و نور افدرین و با استفاده از کاتالیزر اکسید و پلاتین عملی گردید که از راندمان قابل توجهی بهره‌مند بود. واکنش‌های مراحل دوگانه به‌قرار زیر هستند:

مرحله اول:



مرحله دوم:



جهت تولید کلروهیدرات افدرین بر روی نتیجه فوق HCL خشک وارد تا کلروهیدرات افدرین رسوب نمود که با ایزوپروپانول خالص، و سرانجام متبلور گردید.

نتیجه:

آزمایش فوق چندین بار تکرار و هربار با تغییر PH محیط تخمیر (ملاس) محصولات فرعی متنوعی از جمله استوئین- بنزوئین- بنزیل الکل، پروپانول ۲، بنزوئیل متیل کار بینول تولید که مورد تشخیص قرار گرفت. راندمان تولید افدرین به روش فوق، قابل ملاحظه بوده و می‌توان نیاز مملکت را با استفاده از یک پایلوت برطرف ساخت.

**Semisynthesis of L – Ephedrine & Nor Ephedrine from  
Fermentation Effect of Yeast on Benzaldehyde**

M. Kheradmandy, Ph.D

University of Urmia

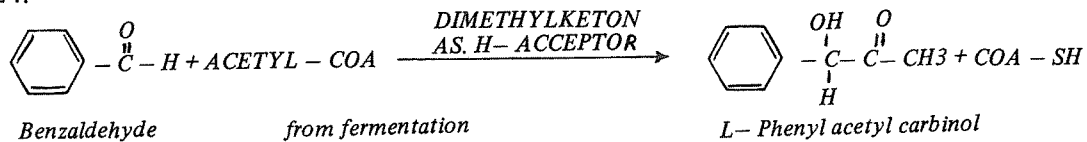
*Ephedrine, plant adrenalin is an alkaloid naturally existing in EPHEDRACEAE. In plant, it is biosynthetized from phenylalanin into Benzaldehyde, then into an intermediate compound ( Probably phenyl – acetyl carbinol) and finally, converted into Ephedrine.*

*Natural Ephedrine was extracted from Ephedra SP. Collected from a Region of Mardabad, KARADJ by using cold Benzene in presence of a dilute Sodium carbonate Solution along with some other steps.*

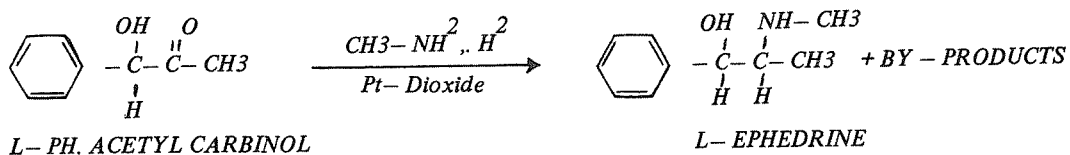
*The result of the above extraction being low, another process was chosen in two stages;*

*(A) Biochemical stage upto preparation of L - Phenyl acetyl - Carbinol and (B), Chemical stage up to reduction of Keto-alcohol to from Ephedrine or rorephedrine depending upon the use of either CH<sub>3</sub>-NH<sub>2</sub> or NH<sub>3</sub> all in presence of H<sub>2</sub> and platinum dioxide as catalystr. The result was of high efficiency:*

**STAGE 1:**



**STAGE (2)**



*To produce Ephedrine Hydrochloride, dry Hcl was introduced to L- Ephedrine and the precipitant was purified By isopropanol and finaly Hcl – Eph. was crystalized.*

**Results:** *This experiment was repeated many times with different PH of fermentation medium (Mollas) and differnt by products were indentified as: acetion Benzoin, Benzylalcohol 2-Propanol, Benzoyl- Methyl carbinol with remarkables efficiency of Eph., so the needs of the country can be secured in this way by a multipurpose pilot plant.*

**مقدمه**

می نمایند. (آدرنالین و نور آدرنالین باعث تنگ شدن رگهای محیطی و گشاد شدن رگهای قلب شده و خون بیشتری را به قلب می رساند. دامنه و تعداد ضربان قلب را افزایش داده و فشار خون را بالا می برد) در پزشکی جهت بالا بردن فشار خون<sup>۱</sup> بیماری آسم و تب یونجه<sup>۲</sup> و در دامپزشکی جهت خواص آدرنرژیک آن معالجه کاهش فشار خون<sup>۳</sup> همراه با بیهوشی<sup>۴</sup> به عنوان بالا برنده فشار خون<sup>۵</sup> و در واکنشهای آلرژیک به عنوان محرک سیستم اعصاب مرکزی CNS مصرف می گردد. فرم دارویی آن به صورت قرص و کپسول (۲۵-۵۰ میلی گرم) و شربت

افدرین یا آدرنالین گیاهی آکالوئیدی است که به مقادیر جزئی در گونه های خانواده Ephedraceae که در بعضی از کشورهای جهان از جمله ایران می رویند وجود دارند. این گیاه از قدیم الایام مورد توجه بوده و در چین تحت نام Ma - Huang حدود ۵۰۰۰ سال است که مصرف دارویی دارد. استفاده از آن در طب جدید از سال ۱۹۲۳ با کشف اثر درمانی آن آغاز گردید. افدرین جزء داروهای آدرنرژیک و هرکجا که نیاز به آدرنالین، نور آدرنالین با شدتی کمتر و دوامی به مراتب بیشتر باشد از آن استفاده

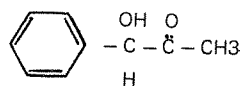
(۴ میلی گرم در میلی لیتر) و نیز تزریقی وریدی و زیر پوستی و بافرمول شیمیایی سولفات و هیدروکلراید مورد مصرف می باشد. بیوسنتز آن در گیاه از تبدیل فنیل آلانین به بنز آلدهید و تبدیل بنز آلدهید به یک ماده واسط (احتمالاً " فنیل استیل کاربینول) و سرانجام بیوسنتز ماده واسط به افدرین انجام می گیرد.

### استخراج از گیاه

استخراج افدرین از یک نوع افدرا که از ناحیه مردآباد کرج جمع آوری گردیده بود توسط بنزن سرد در حضور کربنات سدیم و طی مراحل چند انجام پذیرفت.

بدین نحو که برگ و ساقه گیاه را در حرارت آزمایشگاه خشک و پودر نموده و با الکل ریز الکل کرده و به ترتیب با بنزن سرد در حضور محلول کربنات سدیم رقیق (۲/۵ نرمال) عصاره گیری سپس عصاره بنزنی را با HCl رقیق (۲/۵ نرمال) اسیدی کرده و سپس عصاره اسیدی با کربنات پتاسیم جامد قلیائی و با کلر و فرم  $CHCl_3$  استخراج و سرانجام عصاره کلروفرمی با سولفات سدیم، خشک و تقطیر گردید (محصول حاصل از تقطیر عادی از آب و کلروفرم) راندمان حاصل تقطر از ۷/۰ درصد وزن خشک گیاه افدرا تجاوز نمود که طبعاً " روشی اقتصادی جهت تهیه افدرین محسوب نمی گردد. لذا افدرین تحت دو فرایند یکی بیوسنتتیک تا مرحله تولید ال فنیل استیل کاربینول با استفاده از اثر مخمر آججو بر روی بنز-آلدهید و دیگری سنتتیک از احیاء کتو الکل فوق در حضور متیل آمین، آمونیاک جهت تولید افدرین و نور افدرین به ترتیب - و با استفاده از کاتالیزر اکسید پلاتین عملی و با استفاده از NMR و IR شناسایی گردید. (شکل ۱)

### ۱- بیوسنتز کتو الکل ال فنیل استیل کار باینول.



تهیه کتو الکل فوق از طریق تخمیر و با استفاده از فرمنتور انستیتو بیوفیزیک و بیوشیمی دانشکده علوم دانشگاه تهران انجام شد بدین شرح که در استوانه تخمیر ۱۵ لیتری مواد ذیل را وارد نموده

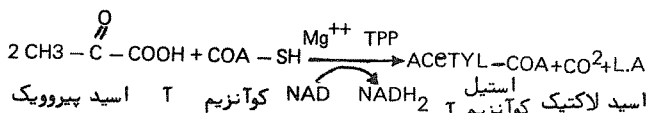
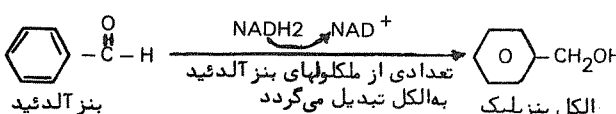
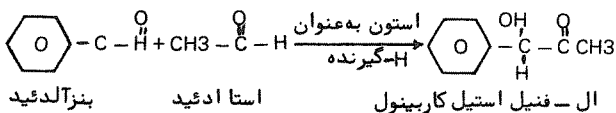
— ملاس چغندر ۲۴% ۲۰۷۵ گرم (به عنوان منبع انرژی برای فعالیت مخمر و تولید استالدهید و آنزیم)

— سولفات کلسیم ۳/۷۵ گرم  
— سولفات آمونیوم ۱۱/۵ گرم  
— اوره ۳۳/۵ گرم  
— سولفات پتاسیم ۷/۵ گرم  
— فسفات آمونیوم ۱۴ گرم  
— آب معمولی ۱۰ لیتر

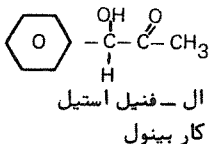
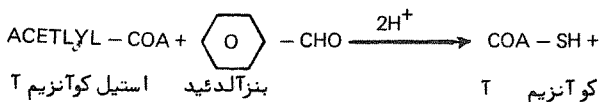
سپس ۵۰۰ گرم مخمر با اکتیویته ۱۰۰ (تهیه شده در کارخانه خمیر مایه ایران واقع در شهریار کرج) *Saccharomyces Cervisiae* به دستگاه تخمیر اضافه و به مدت نیم ساعت تخمیر انجام گردید. سپس در طول مدت ۲ ساعت مخلوطی از ۶۸ گرم بنز آلدهید و ۷۴ گرم استون در

حالی که دستگاه به طور خودکار مخلوط را به شدت بهم می زد قطره قطره به ظرف تخمیر افزوده گردید.

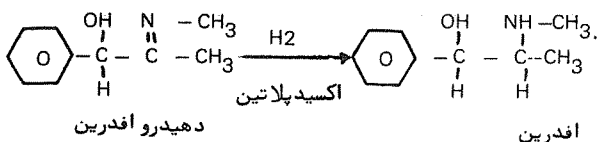
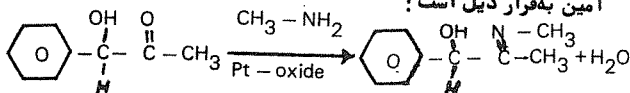
سرانجام به مدت ۱۸ ساعت تخمیر در حرارت ۳۰-۲۸ درجه سانتیگراد ادامه یافته و در پایان مخلوط سانتریفوز، محلول حاصل دوبار با یک لیتر آمیل استات استخراج و پس از تقطیر آمیل استات تقطیر مواد حاصل ادامه یافت. تا مخلوط کتو الکل و الکل بنزلیک که یکی به عنوان ماده اصلی و دیگری به عنوان یک محصول فرعی در طول عمل تخمیر حاصل گردید بود از یکدیگر جدا شدند واکنش هائی که در جریان تخمیر منجر به تشکیل کتو الکل می شوند به قرار زیرند:



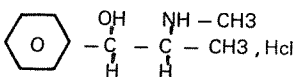
(متیزیم در کلیه موجودات زنده به عنوان یکی از عناصر ضروری وجود دارد و وظیفه آن فعال نمودن فعالیت آنزیمی است.)

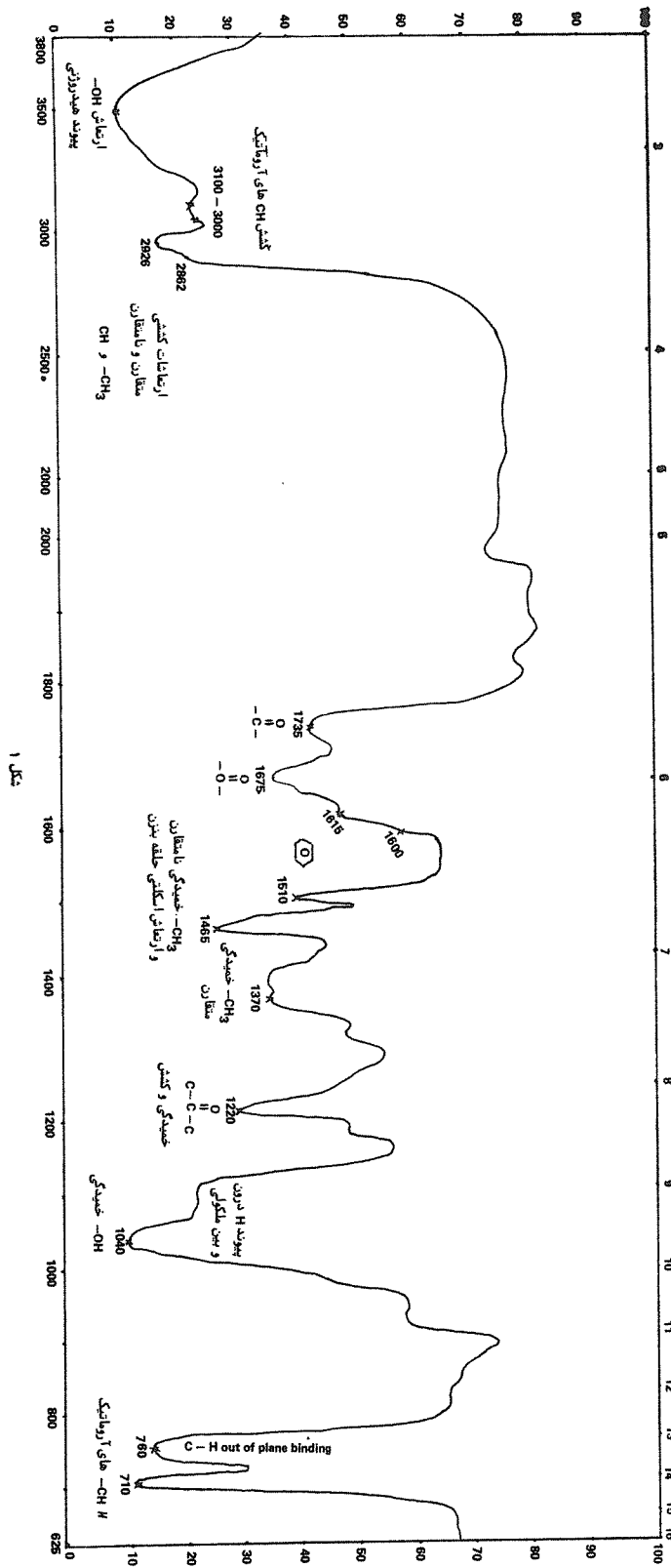


### ۲- سنتز افدرین شامل احیاء فنیل استیل کاربینول فوق در حضور متیل آمین به قرار ذیل است:



کتو الکل را با کسید پلاتین در حرارت صفر درجه و فشار عادی در حضور متیل آمین و هیدروژن احیاء، و بر روی نتیجه HCl خشک وارد گردید. (گاز HCl عبور داده شده از الکل مطلق.)





شکل ۱

## بحث و نتیجه‌گیری

تهیه L-Phenylacetylcarbinol

به‌روش بیوشیمیایی و تخمیر

ساکاروز گلوکز در حضور بنز آلدهید به‌سالمهای ۲۲-۱۹۲۱ و کارهای Neuberger باز می‌گردد: از آن زمان به‌بعد پیوسته مطالعاتی در این زمینه انجام که با استفاده از متیل آمین و هیدروژن و کاتالیز منجر به تولید L-Phenylmethylamino Propanol گردید. در روشهای پیشنهادی محصولات فرعی حاصل از تخمیر زیاد، مدت تخمیر نیز طولانی و راندمان کم بوده و با توجه به مصرف مواد قندی و بنز آلدهید و نیز حلال مناسب جهت استخراج کنول تولید شده از محیط تخمیر، مشکلاتی را در راه کاربرد این روش‌ها به‌عنوان روش تولید اقتصادی مطرح نمود.

کارهای Pfanz و HEISE در آلمان شرقی در سال ۱۹۵۶ با توجه به امکانات علمی و فنی زمان تا حدی بر این مشکل فائق آمد و روش پیشنهادی آنان به‌مرحله عملی تولید نزدیکتر گردید.

در دانشکده داروسازی دانشگاه تهران تهیه افدرین به‌طریق استخراج از گیاه افدرین مطرح بود که راندمان آن از گیاهان جمع‌آوری شده از ناحیه مردآباد کرج حتی با رعایت تدابیر لازم از ۷/۵ درصد تجاوز ننمود. لذا با استفاده از مخمر نانوانی تولیدی ایران و ماسلا به‌انجام آزمایشاتی اقدام که نتایج آن را می‌توان بدین قرار خلاصه نمود.

۱- مخمر نانوانی تولید شده در ایران برای تولید کنول مذکور مساعد بوده و در عین حال با توجه به اکتیویته مخمرهای تولید شده می‌توان رابطه مساعدترین اکتیویته مخمر و حداکثر تولید را مورد بررسی قرار داد.  
۲- مکمل غذایی معدنی ماسلا چغندر استحصالی در ایران با این مکمل در اروپا و دیگر کشورها مبتنی بر نوع خاک‌های که چغندر قندروی آن رشد کرده متفاوت می‌باشد.

برای مثال میتوان مکمل نمکهای منیزیم در اروپا جهت تکمیل محیط تخمیر و نمکهای مصرفی در این آزمایش را که شرح آن رفته است مورد توجه قرار داد در عین حال خاطر نشان می‌گردد که Calibrage این مواد به‌آزمایشاتی طولانی نیازمند است که نتایج آن نه‌تنها تولید موفقیت-آميز افدرین بلکه جهت گسترش صنایع تخمیر در ایران می‌تواند راه‌گشا باشد.

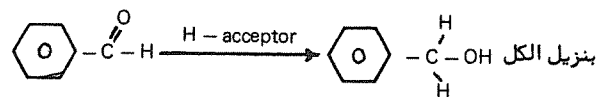
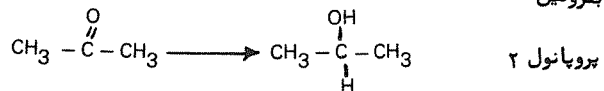
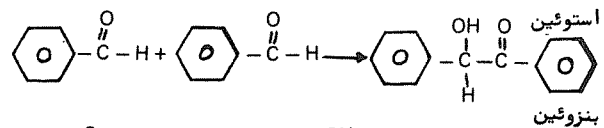
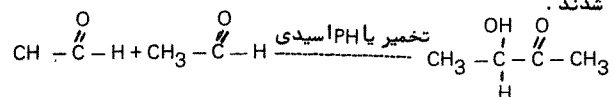
۳- در ارتباط با طول زمان تخمیر آزمایشات مکرر انجام شده نشان داد که می‌توان بدون تغییر محسوسی در راندمان طول مدت را از ۲۴ ساعت و ۱۸ ساعت حتی به ۳ ساعت تقلیل داده و از مصرف هیدروژن گیرنده صرف‌نظر کرد زیرا کوتاه نمودن طول زمان هم مانع آلودگی محیط تخمیر می‌گردد و هم زیان ناشی از هیدروژن حاصل در محیط را کاهش می‌دهد (هیدروژن تولیدی از سلول خارج نشده و هم‌زمان کوآنزیم مربوطه را احیاء می‌کند)

۴- مطالعه ارتباط PH محیط تخمیر و تولید مواد گوناگون نشان داد که تغییرات PH در ارتباط با مواد استحصالی نیز از اهمیت شایانی برخوردار است زیرا راه کاهش مواد فرعی زائد و نیز تولید ترکیبات دیگر را به‌طریق تخمیر بدست می‌دهد. خاطر نشان می‌گردد که با ایجاد PH خنثی غیر تامپونه در شروع تخمیر محصول تخمیر بیشتر کنول حاصل مورد نظر بود درحالی‌که در PH اسیدی معادل ۴ (با اسید سولفوریک) در شروع تخمیر کنول الکلی تولید شده منحصر<sup>۲</sup> Benzoil Methyl Carbinol بوده و در حالت‌های بین این دو PH موادی مانند استوئین، بنزوئین، پروپانول

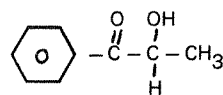
تا افدرین هیدروکلراید رسوب نمود همراه با رسوب مقداری متیل آمین هیدروکلراید تولید گردید که این دو رسوب با ایزوپروپانول از یکدیگر جدا و افدرین هیدروکلراید مبتلور گردید (تبلور در ایزوپروپانول).

## بیوسنتز محصولات فرعی مختلف:

محصولات فرعی مختلفی که در ضمن این تخمیر و در شرایط مختلف از نقطه‌نظر PH به‌وجود آمد. عبارتند از: استوئین، بنزوئین، پروپانول ۲ تولید L-PHENYL-METHYLAMINO PROPANOL و کنول الکلی آن یعنی ال فنیل استیل کاربینول در PH خنثی محیط تخمیر انجام پذیرفت اما با اسیدی کردن این محیط، به‌جای کنول الکلی مذکور مواد ذیل حاصل شدند.

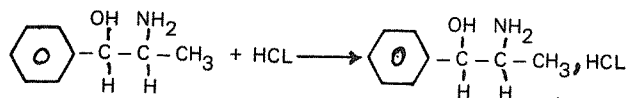
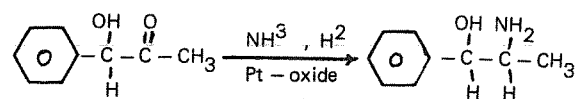


یکی دیگر از مواد به‌دست آمده در تخمیر ایزومر کنول الکلی ال فنیل استیل کاربینول یعنی بنزوئیل، متیل کاربینول می‌باشد.



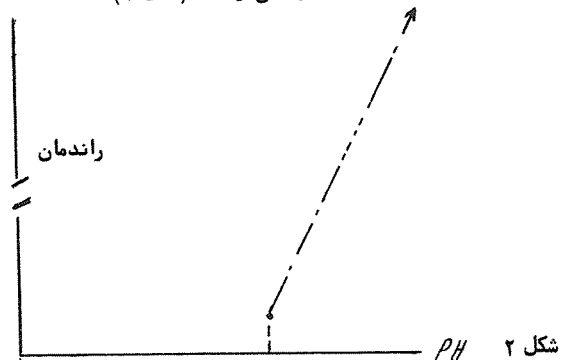
با اسیدی کردن محیط تخمیر با اسید سولفوریک و رساندن آن به PH = ۴ منحصر<sup>۲</sup> کنول الکلی بنزوئیل متیل کاربینول بیوسنتز گردید.

۴- سنتز نور افدرین هیدروکلراید، فنیل پروپانول آمین هیدروکلراید. پس از حصول کنول الکلی



پس از حصول کنول الکلی ال فنیل استیل کاربینول یک‌بار هم به‌جای استفاده از متیل آمین از آمونیاک استفاده گردید. لذا نور افدرین یا فنیل پروپانول آمین حاصل شد که با HCL خشک آن را رسوب داده و فنیل پروپانول آمین هیدروکلراید از محیط جدا گردید.

۲، و بنزیل الکل به مقادیر مختلف غیر مشخصی تولید گردید. به عبارت دیگر هرچه PH از خنثی به طرف اسیدی می‌رود میزان تولید بنزویل متیل کاربینول اضافه و بلعکس تغییر PH بطرف خنثی باعث تولید مقادیر بیشتری ال فنیل استیل کار بینول می‌گردد. (شکل ۲)



شکل ۲ راندمان کتو الکل بر حسب گرم محصول تولید شده

۵- در حالی که راندمان حداکثر کتو الکل مورد نظر بر مبنای بنزآلدئید مصرفی ۳۹/۸٪ گزارش گردیده است راندمان حاصل در این مطالعه معادل ۳۲ گرم و از ۴۵٪ هم متجاوز است. و با مطالعاتی در زمینه مکملهای غذایی معدنی PH حرارت حلال مناسب و غیره می‌توان به نتایج مطلوبتری نیز دست یافت که امید می‌رود با توجه به فقدان مطالعه کافی در این مورد در مطالعات بعدی مورد توجه قرار گیرد.

۶- تولید افدرین مورد نیاز مملکت حتی در شرایطی که این آزمایش انجام گرفته با توجه به راندمان آن کاری عملی و اقتصادی به نظر می‌رسد.

#### تشکر و قدردانی

از همکاران آزمایشگاه شیمی دارویی دانشکده داروسازی بخصوص آقای دکتر دانش‌طلب و نیز انستیتو بیوشیمی و بیوفیزیک دانشگاه - تهران به خاطر همکاری‌هایشان صمیمانه سپاسگزار می‌نمایم.

#### پاورقی

1. Mydriasis
2. Myasthenia Gravis
3. Hypotension
4. Anesthesia
5. Mydriatic

#### منابع

- ۱- آئینه‌چی، یعقوب (مترجم). مفردات پزشکی جدید. تهران. دانشگاه تهران. ۱۳۵۸. ص: ۴۳۵-۴۳۷.
- ۲- ادیب، عباس. فارماکولوژی پزشکی. تهران. چهر. ۱۳۵۴.
- ۳- ایزد دوست، محمد (مترجم). شیمی گیاهی. تهران دانشگاه تهران. ۱۳۶۳.

- ۴- زرگری، علی. گیاهان دارویی. (ج ۳) تهران. دانشگاه تهران. چاپ سوم. ۱۳۶۳.
- ۵- فرخ سیر، مرتضی (و) بهزاد، محمود (مترجمان). میانی فارماکولوژی. تهران. کتابهای جیبی. ۱۳۵۳.
- ۶- مبین، صادق. رستنی‌های ایران / فلور گیاهان آوندی. (ج ۱). تهران. دانشگاه تهران. ۱۳۵۴.
- ۷- نفیسی، رضا. بیوشیمی پزشکی. تهران. چهر. چاپ هفتم. ۱۳۵۶.

- 8- CHO, Y.D & Martin, R. O. Biochem. 44 49 (1971)
- 9- Dawson, R. F. Plant Physilo. 21 115 (1946)
- 10- Devan, T. K. & Scott, A. I., Handbook of Naturally Occring Compounds, 3, Alkoloids and Related Nitrogenous, Compounds, Academic Press, N. Y. 1972.
- 11- Laurena, D. R. et al; Clinical Pharmacology 5th ed. Churchill Livingstone, Edinbugh, London & New York 1980.
- 12- Lehninger, A. Principles of Biochemistry worth Publishers, Inc. 444 Park Avenue South, New York, New York 10016 U.S.A. 1982.
- 13- Meyers, F.h . et al; Review of Medical Pharmacology 5th ed. Lange Medical Publications Los Atlos California 1976.
- 14- Morrison, R. T. & Boyd, R. N. Organic Chemistry 4th ed. Allyn & Bacon Inc. 7 Wells Avenue, Newton. Massachusetts U.S.A. 1983.
- 15- Mothes, K. & Schutte, H. R. Biosynthese der Alkalvide, VEB Deutscher Verlagder Wissenschaften Berlin 1969.
- 16- Robinson. T. The Biochemistry of Alkaloids, Springer Verlag, Berlin 1968.
- 17- White. A. et al; Principles of Biochemistry. 5th. ed. McGraw - Hill, New York 1973.
- 18- Windholz M. et al, the Merck index. 6th ed. Merck & Co. inc. RAHWAY, NJ. U. S. A. 1976.

